

Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus Sp.* dan *Streptococcus Sp.* dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial (*Identification and Characteristics of Staphylococcus Sp. and Streptococcus Sp. Infection of Ovary in Commercial Layers*)

¹ Novianti Neliyani Toelle; ² Viktor Lenda

¹Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Kesehatan Hewan, Politeknik Pertanian Negeri Kupang

²Laboratorium Patologi dan Anatomi, Program Studi Kesehatan Hewan, Politeknik Pertanian Negeri Kupang

Jl. Adisucipto Penfui Kupang, Kampus Politeknik Pertanian Negeri Kupang,

E-mail: nelly_toelle@yahoo.com

Abstrak

Infeksi ovarium merupakan salah satu penyakit yang paling sering ditemukan pada ayam petelur menjelang periode betelur maupun selama masa produksi. Gangguan produksi telur dapat terjadi karena gangguan perkembangan ovarium akibat gangguan pertumbuhan pada ayam, kerusakan ovarium atau akibat penyakit. Penelitian ini dirancang untuk mengisolasi, mengidentifikasi, dan karakteristik bakteri penyebab infeksi ovarium pada ayam petelur komersial. Sejumlah 19 sampel ayam petelur komersial yang diperoleh dari tiga peternakan di wilayah Yogyakarta. Ovarium yang mengalami infeksi dikultur pada plat agar darah (PAD), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah pengelompokkan koloni dilanjutkan pengecatan Gram. Gram positif bentuk kokus dilakukan uji katalase. Selanjutnya bakteri dengan katalase positif dilakukan uji koagulase, kultur pada *mannitol salt agar* (MSA), *Voges Proskauer* (VP) dan uji oksidase. Hasil identifikasi dan karakteristik bakteri dari infeksi ovarium adalah *Staphylococcus aureus* (46%), *Staphylococcus intermedius* (27%), *Staphylococcus epidermidis* (20%), dan *Streptococcus sp.* (7%).

Kata kunci : Ovarium, ayam petelur, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*

Abstract

Ovary infection is among the most common diseases found in layers between the start of egg production and during the laying phase. Egg production disruptions can be occur because of impaired ovary development in chickens due to growth disturbance, damage ovary, or due to the disease. This experiment was designed to isolate, identify, and characterize the bacteria causing ovary infection in commercial layers. Nineteen samples of commercial layers that were obtained from three farms in the region of Yogyakarta. Samples of infected ovaries were cultured on blood agar plates (PAD), then incubated at 37°C for 18-24 hours. After the grouping of the colony continued Gram staining. Catalase test for Gram-positive coccus. Furthermore, catalase-positive bacteria with coagulase test, cultured on mannitol salt agar (MSA), Voges Proskauer (VP) and oxidase test. Bacteria that can be identified and characterized from infected ovary were *Staphylococcus aureus* (46%), *Staphylococcus intermedius* (27%), *Staphylococcus epidermidis* (20%), dan *Streptococcus sp.* (7%).

Kata kunci : Ovary, layers, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*

Pendahuluan

Infeksi ovarium merupakan salah satu penyakit yang paling sering ditemukan pada ayam petelur dan mempunyai dampak ekonomik pada awal produksi atau selama masa produksi telur. Dampak ekonomik yang diakibatkan oleh infeksi ovarium, terutama infeksi *ooforitis*, meliputi produksi telur yang tertunda, puncak produksi yang tidak tercapai, ketahanan produksi telur yang rendah, peningkatan jumlah ayam yang diafkir, dan peningkatan mortalitas (Tabbu, 2000).

Identifikasi untuk membedakan *Staphylococcus sp.* dengan *Streptococcus sp.* adalah berdasarkan uji katalase (Todar, 2005), sedangkan

untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* lainnya didasarkan pada kriteria fenotipik (Boerlin *et al.*, 2003), meliputi morfologi pertumbuhan koloni, uji katalase, koagulase serta adanya fermentasi mannitol pada *mannitol salt agar* (MSA) (Andreasen, 2008; Yurdakul *et al.*, 2013). Faktor patogenitas *Staphylococcus aureus* berhubungan dengan ada atau tidak adanya produksi enzim koagulase, (Levinson dan Jawetz, 2003; Andreasen, 2008), selain itu *Staphylococcus aureus* dibedakan dengan adanya fermentasi mannitol pada MSA (Fox, 2000). Menurut Kloos dan Lambe. (1991) serta Quinn *et al.* (2002) *Staphylococcus aureus* juga

dapat dibedakan dengan adanya produksi asetoin yang dapat diketahui melalui uji *Voges-Proskauer* (VP).

Berdasarkan hasil penelitian tentang isolasi bakteri dari infeksi ovarium pada peternakan ayam petelur komersial belum banyak dilaporkan di Indonesia. Penelitian yang dilakukan di Indonesia hanya terbatas pada satu jenis bakteri, yaitu Ulupi dkk (2012) berhasil mengisolasi *Salmonella enteritidis* dari ovarium ayam petelur. Beberapa peneliti dari luar negeri yaitu Amer dan Ghany (2006) berhasil mengisolasi *Staphylococcus* dari ovarium ayam petelur. Gundogan *et al.*, (2005); Thayer dan Waltman, (2008) berhasil mengidentifikasi *Staphylococcus* yang tergolong patogen pada unggas adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, dan *Staphylococcus hyicus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi, dan karakteristik bakteri yang di isolasi dari infeksi ovarium di Wilayah Sleman Yogyakarta.

Materi dan Metode

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan berdasarkan metode sampling non probabilitas dengan menggunakan metode konvein yang didasarkan pada kemudahan akses yang dimiliki oleh peneliti (Israel, 2012). Dalam hal ini sampel yang memiliki kriteria adalah sampel ayam petelur yang mengalami penurunan produksi telur dan adanya infeksi ovarium yang diperoleh dari tiga peternakan ayam petelur komersial di wilayah Yogyakarta.

Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus sp.*

Identifikasi pertama yaitu ovarium yang mengalami perubahan dikultur langsung secara aseptis pada PAD pada suhu 37°C selama 18-24 jam, pertumbuhan koloni diamati dengan melihat morfologi

koloni. Morfologi koloni yang tumbuh kemudian dikelompokkan dan dilanjutkan pengecatan Gram (Pommerville, 2011). Gram positif bentuk kokus dilakukan uji katalase.

Identifikasi kedua adalah uji katalase dilakukan dengan mengambil sedikit koloni dari kultur murni PAD dan koloni diletakkan pada obyek glass yang telah ditetesi H₂O₂. Hasil positif ditandai adanya gelembung udara untuk membedakan *Staphylococcus sp.* dengan *Streptococcus sp.* (Todar, 2005).

Identifikasi ketiga yaitu uji koagulase dilakukan dengan plasma darah kelinci (Bruckler *et al.*, 1994) dan dilanjutkan penanaman koloni pada *mannitol salt agar* (MSA). Uji MSA dilakukan dengan cara sebagai berikut, koloni yang terdapat dalam PAD diambil dengan ose dan dikultur pada media MSA, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning. Uji *Voges Proskauer* (VP) digunakan untuk mengetahui pembentukan acetilmetikarbinol deteksi produksi asetoin, kemudian dilanjutkan uji oksidase (Todar, 2005; MacWilliams, 2012).

Hasil dan pembahasan

Hasil isolasi bakteri dari 19 ayam petelur komersial yang diisolasi dari infeksi ovarium diperoleh 15 koloni bakteri yang terdiri dari *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Streptococcus sp.* (Tabel 1). Gambar sel bakteri *Staphylococcus sp.* (Gambar 1), Gambar sel bakteri *Streptococcus sp.* (Gambar 2). Gambar hasil uji katalase (Gambar 3). Gambar hasil uji *mannitol salt agar* (MSA) (Gambar 4). Gambar hasil uji *Voges Proskauer* (VP) (Gambar 5). Gambar hasil uji oksidase (Gambar 6).

Tabel 1. Hasil isolasi dan identifikasi bakteri pada ayam petelur komersial.

| No | Pternakan / kode sampel | PAD | Gram | | Uji | | | Keterangan | | |
|-------|-------------------------------|------------------|--------|---|----------|-----------|-----|------------|---|--------------------------|
| | | Morfologi koloni | Bentuk | | Katalase | Koagulase | MSA | VP | O | |
| 1. | F1/A1O | Putih | kokus | + | + | - | FM | + | - | <i>S. aureus</i> |
| 2. | F1/A2O | abu-abu | kokus | + | + | - | FM | + | - | <i>S. aureus</i> |
| 3. | FR/A3O | ✚ | | | | | | | | |
| 4. | FR/A4O | ✚ | | | | | | | | |
| 5. | FR/A5O | Kuning | kokus | + | + | - | FM | + | - | <i>S. aureus</i> |
| 6. | FR/A6O | Kuning | kokus | + | + | - | NFM | - | - | <i>S. intermedius</i> |
| 7. | FR/A7O | Putih | kokus | + | + | - | FM | + | - | <i>S. aureus</i> |
| 8. | FR/A8O | ✚ | | | | | | | | |
| 9. | FR/A9O | Putih | kokus | + | + | - | NFM | - | - | <i>S. intermedius</i> |
| 10. | F1/A10O | Putih | kokus | + | + | - | FM | + | - | <i>S. aureus</i> |
| 11. | F1/B1O | Putih | kokus | + | + | - | FM | + | - | <i>S. aureus</i> |
| 12. | FI/B2O | Putih | kokus | + | + | - | FM | + | - | <i>S. aureus</i> |
| 13. | FI/B3O | Putih | kokus | + | + | - | NFM | - | - | <i>S. intermedius</i> |
| 14. | FI/B4O | Putih | kokus | + | + | - | NFM | - | - | <i>S. intermedius</i> |
| 15. | FV/B5O | ✚ | | | | | | | | |
| 16. | FV/C1O | Putih | kokus | + | + | - | NFM | + | - | <i>S. epidermidis</i> |
| 17. | FV/C2O | Abu-abu | kokus | + | - | * | * | * | + | <i>Streptococcus sp.</i> |
| 18. | FV/C3O | Kuning | kokus | + | + | - | NFM | + | - | <i>S. epidermidis</i> |
| 19. | FV/C4O | Kuning | kokus | + | + | - | NFM | + | - | <i>S. epidermidis</i> |
| Total | | 15 bakteri | | | | | | | | |

Keterangan :

FI : Farm Inti

FR : Farm Komersial layer

FV: Farm Verawati

MSA : *Mannitol Salt Agar*

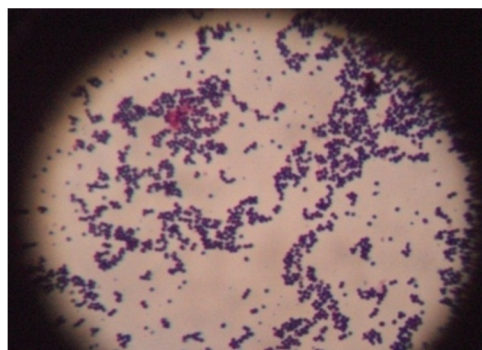
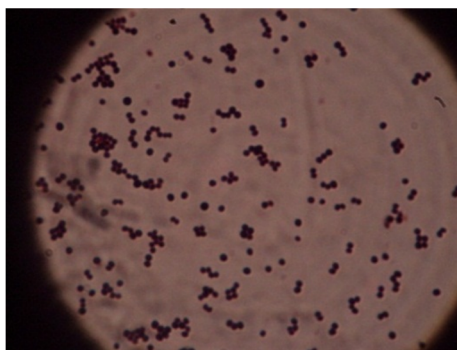
O : oksidase

FM : memfermentasi mannitol

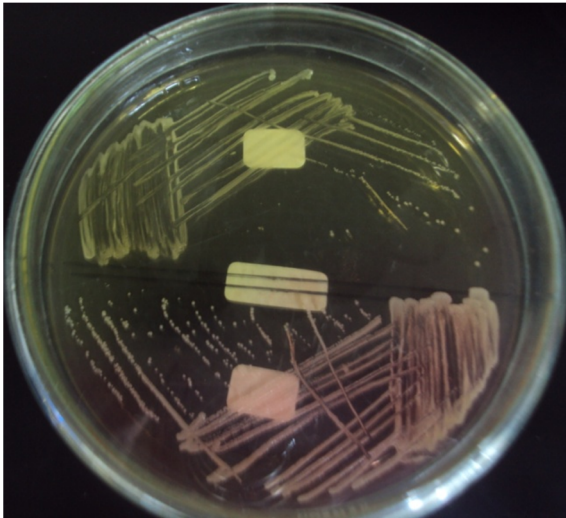
NFM : tidak memfermentasi mannitol

✚ : tidak ditemukan bakteri

* : tidak dilakukan.

Gambar 1. Fotomikroskopik *Staphylococcus sp.*Gambar 2. Fotomikroskopik *Streptococcus sp.*

Gambar 3. Uji Katalase



Gambar 4. Hasil uji fermentasi mannitol (MSA)



Gambar 5. Hasil uji VP



Gambar 6. Hasil uji oksidase

Uji katalase, merupakan uji yang digunakan untuk membedakan spesies *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus sp.* Katalase positif ditunjukkan adanya gelembung gas (O_2) yang diproduksi oleh genus *Staphylococcus*. Hasil uji katalase menunjukkan hasil positif pada semua isolat *Staphylococcus aureus* sejumlah 7/15 (46%), *Staphylococcus intermedius* sejumlah 4/15 (27%), dan *Staphylococcus epidermidis* sejumlah 3/15 (20%), karena menghasilkan enzim katalase mampu menghidrolisis hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan gelembung gas (O_2). Hasil uji katalase negatif adalah *Streptococcus sp.* sejumlah 1/15 (7%). Hal ini sangat sesuai dengan yang dilaporkan oleh Kita *et al.* (2005); Todar (2005); Yurdakul *et al.* (2013).

Uji koagulase merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui ada tidaknya enzim koagulase yang dihasilkan oleh *Staphylococcus sp.* Hasil positif ditunjukkan terbentuk gumpalan pada tabung. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan hasil negatif terhadap semua isolat *Staphylococcus aureus* sejumlah 7/15 (46%), *Staphylococcus intermedius* sejumlah 4/15 (27%), dan *Staphylococcus epidermidis* sejumlah 3/15 (20%). Koagulase positif umumnya dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus*, namun ditemukan juga *Staphylococcus aureus* koagulase

negatif (Andreasen, 2008). *Staphylococcus sp.* Koagulase negatif, bertindak sebagai patogen oportunistik (Yurdakul *et al.*, 2013).

Uji mannitol salt agar (MSA), merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan memfermentasi mannitol pada *Staphylococcus sp.* Hasil positif ditunjukkan perubahan warna pada medium dari warna merah menjadi kuning karena adanya *fenol acid* dan hasil negatif tidak ada perubahan warna. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan hasil positif MSA adalah *Staphylococcus aureus* sejumlah 7/15 (46%) dan *Staphylococcus intermedius* sejumlah 4/15 (27%) sedangkan *Staphylococcus epidermidis* sejumlah 3/15 (20%) menunjukkan hasil negatif. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan (Seo and Bohach, 2005).

Uji *Voges Proskauer*, merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui pembentukan acetilmetilkarbinol (asetoin), sebagai hasil fermentasi glukosa pada *Staphylococcus*. Hasil positif terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah dan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna merah pada tabung (Todar, 2005). Hasil penelitian ini menunjukkan hasil VP positif adalah *Staphylococcus aureus* sejumlah 7/15 (46%) dan *Staphylococcus epidermidis* sejumlah 3/15 (20%) serta hasil VP negatif

yaitu *Staphylococcus intermedius* sejumlah 4/15 (27%). Penelitian ini didukung penelitian sebelumnya (Andreasen, 2008).

Pada penelitian ini, jumlah keseluruhan *Staphylococcus sp.* yang berhasil di isolasi sebesar 93%, meliputi *Staphylococcus aureus* sejumlah 46% (7/15), *Staphylococcus intermedius* sejumlah 27% (4/15), dan *Staphylococcus epidermidis* sebesar 20% (3/15). Beberapa peneliti melaporkan *Staphylococcus* yang berhasil di isolasi dari ovarium ayam petelur adalah 25% (3/12) (Amer dan Ghany, 2006).

Hasil penelitian menunjukkan persentase *Streptococcus sp.* sebanyak 7% (1/15). *Streptococcus sp.* tersebar luas di alam dan dapat ditemukan pada berbagai lingkungan peternakan dengan jumlah populasi ayam tinggi (banyak), sering bersifat sekunder terhadap penyakit lainnya, dapat bersifat septisemia akut dan merupakan flora normal pada saluran pencernaan. Infeksi *Streptococcus sp.* dapat terjadi melalui pakan atau air minum yang tercemar, kontaminasi dapat melalui feses pada permukaan telur dengan penetrasi pada kulit telur atau pembentukan telur selama di ovarium atau oviduk. Kejadian *Streptococcus* pada ovarium ayam petelur, belum banyak dilaporkan.

Kesimpulan

Sebagian bakteri patogen yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari infeksi ovarium pada ayam petelur komersial adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Streptococcus sp.* Karakteristik *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, dan *Staphylococcus epidermidis* adalah koagulase negatif, katalase positif, dan oksidasi negatif. Karakteristik *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* lainnya adalah hasil MSA positif dan uji VP positif. *Staphylococcus intermedius* hasil MSA negatif dan VP negatif, sedangkan *Staphylococcus epidermidis* MSA negatif dan uji VP positif. *Streptococcus sp.* adalah hasil uji katalase negatif dan oksidase positif.

Daftar Pustaka

Andreasen, C.B. 2008. *Staphylococcosis dalam Diseases of Poultry*. 12th ed. Diedit oleh Saif Y.M, Fadly, A.M., McDougald, Nolan, L.K., Swayne, D.E, USA: Blackwell publishing, hal. 892-896.

Amer, M.M dan Ghany, W.A.A. 2006. *Bacterial Causes of Decrease in Performance of the*

Breeder Chicken Flocks. Veterinary Medical Journal. Vol. 16, No. 1, hal 61-69.

Boerlin, P., P. Kuhnert, D. Hussy and M. Schaellibaum. 2003. *Methods for Identification of Staphylococcus aureus Isolates in Cases of Bovine Mastitis*. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 41. No. 2, hal 767 - 769.

Fox, M. T. 2000. *Identification of Gram-Positive Bacteria: Normal Flora Staphylococci*. Journal Microbiology, Vol. 56, hal. 423-429.

Gundogan, N., Citak, S., Yucel, N., and Devren, A. 2005. "A Note On The Indicende and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated From Meat and Chicken Samples." *Meat Science*, Vol. 69, hal. 807-810.

Israel, G.D. 2012. *Sampling the Evidence of Extension Program Impact*. Diakses melalui <http://edi.ifas.ufl.edu/pd005> [8/4/2014].

Kitai, S., Shimizu, A., kawano, J., Sato, E., Nakano, C., Kitagawa, H., Fujio, K., Matsumura, K., Yasuda, R., dan Inamoto, T. 2005. *Prevalence and characterization of Staphylococcus aureus and Enterotoxigenic Staphylococcus aureus in Retail raw chicken Meat Throughout Japan*. J. Vet Med Sci. Vol. 67, No. 3, hal. 269-74.

Kloos, W. E. and D. W. Lambe. 1991. *Staphylococcus*. In: A. Balows, W. J. Hausler, Jr., K. L. Herrmann, H. D. Isenberg, H. J. Shadomy (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC. USA, hal. 222 - 232.

Levinson, W., E. Jawetz. 2003. *Medical Microbiology & Immunology: Examination & Board Review*. 7th ed. McGraw-Hill Companies Inc. Singapore, hal. 91 - 95, 437.

Macwilliams, M.P. 2012. *Indole Test Protocol*. Diakses melalui <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3202-indole-test-protocol> [8/4/2014].

Morishita, T.Y. 2012. Overview of Streptococcosis in Poultry. dalam *The Merck Veterinary Manual*, diedit oleh Aiello, S. E., Moses, M.A., Lane, K.A.G., Schindler, S. T., and short, S.C, USA, hal. 114-120.

Pommerville, J.C. 2011. *Alcano's Laboratory Fundamentals of Microbiology*. Jones and Bartlett Learning, LLC.

Quinn, P.j., Markey, B.K., carter, M.E., Donnelly, W.J.C., and Leonard, F.C. 2002. *Veterinary*

- Microbiology and Microbial Disease*. Blackwell Publishing, UK, hal. 119.
- Seo, K.S. and Bohach, G.A. 2005. *Staphylococcus aureus* dalam *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. Diedit oleh Doyle, M.P. and Beuchat, L.R, Washington: ASM Press, hal. 493-996.
- Tabbu. 2000. *Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Volume I*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Thayer, S.D, and Waltman, W.D. 2008. *Staphylococcosis dalam Isolation, Identification, and Characterization Of Avian Pathogens*. Diedit oleh Zavala, L.D; Swayne, D.E; Glisson, J.R; Pearson, J.E., Reed, W.M, Jackwood, M.W., and Woolcock, P.R, United States America, 5th ed, American Association of Avian Pathologists.
- Todar, K. 2005. *Todar's Online Textbook of Bacteriology, Staphylococcus*. Diakses melalui http://textbookbacteriology.net/stap_2.html [20/4/2014].
- Ulupi, N., Arief, I.I., Brahmanityo, B., and Riwayati, K.E. 2012. *International Seminar on animal Industry: Effectiveness of Lactobacillus acidophilus 2B4 as Biocontrol to Prevent Salmonella enteritidis Infection on Laying Hens*. Proceeding of the 2nd International Seminar on animal Industry, Jakarta.
- Yurdakul, N.E., Erginkaya, Z., and Unal, E. 2013. *Antibiotic Resistance of Enterococci, Coagulase Negative Staphylococci and Staphylococcus aureus Isolated from Chicken Meat*. *Czech J. Food Sci.* Vol. 31, No.1, hal. 14-19.